

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 04-108734

(43)Date of publication of application : 09.04.1992

(51)Int.Cl.

A61K 31/73
C08B 37/08

(21)Application number : 02-227200

(71)Applicant : KURITA WATER IND LTD

(22)Date of filing : 29.08.1990

(72)Inventor : ENOMOTO MIKIJI
HASHIMOTO MASANORI
KURAMAE TATSUSHI
KANNO MICHIIHIRO

(54) CHOLESTEROL LOWERING AGENT

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a cholesterol lowering agent, containing low-molecular weight chitosan having a molecular weight within a specific range as an active ingredient, having high cholesterol lowering effects, providing high effects with a small amount thereof used, capable of exhibiting a low viscosity due to a low molecular weight thereof and applicable to foods, beverages, etc.

CONSTITUTION: A cholesterol lowering agent containing low-molecular weight chitosan having 2000-20000 weight-average molecular weight. The low-molecular weight chitosan preferably has more amino groups and a higher colloid equiv. value. The aforementioned low-molecular weight chitosan can readily be produced by, e.g. deacetylating chitin with an alkali and reducing the molecular weight of the resultant chitosan according to a conventional method. Since the above-mentioned chitosan has the molecular weight within the limit region solubilizing under neutral or alkaline conditions, cholesterol lowering effects are effectively exhibited by keeping a get state with excellent dispersibility. Furthermore, since the chitosan has the low viscosity in a dissolved state, addition to foods or beverages is readily carried out. Industrial usefulness of the agent is high.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑫ 公開特許公報(A) 平4-108734

⑬ Int.Cl.⁵

A 61 K 31/73
C 08 B 37/08

識別記号

ADN

A

庁内整理番号

9164-4C
7624-4C

⑭ 公開 平成4年(1992)4月9日

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 降コレステロール剤

⑯ 特 願 平2-227200

⑰ 出 願 平2(1990)8月29日

⑱ 発 明 者	榎 本	幹 司	東京都新宿区西新宿3丁目4番7号 栗田工業株式会社内
⑱ 発 明 者	橋 本	正 憲	東京都新宿区西新宿3丁目4番7号 栗田工業株式会社内
⑱ 発 明 者	倉 前	達 志	東京都新宿区西新宿3丁目4番7号 栗田工業株式会社内
⑱ 発 明 者	管 野	道 廣	福岡県福岡市東区名島5丁目38番23号
⑲ 出 願 人	栗田工業株式会社 東京都新宿区西新宿3丁目4番7号		
⑳ 代 理 人	弁理士 重 野 剛		

明 細 書

1. 発明の名称

降コレステロール剤

2. 特許請求の範囲

(1) 重量平均分子量2000～20000の低分子量キトサンを含むことを特徴とする降コレステロール剤。

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は降コレステロール剤に係り、特に、キトサンを有効成分とする、降コレステロール効果に優れた降コレステロール剤に関する。

〔従来の技術〕

キトサンはカニ、エビ等の甲殻類の殻の構成成分であるキチンを高濃度アルカリで処理してN-脱アセチル化を行なうことにより得られるアミノ基を持つ多糖類である。このようなキトサンの利用分野は多岐にわたるが、特開昭54-148090では、キトサンが経口降コレステロール剤として優れていることが報告されてい

る。

キトサンの降コレステロール作用は、不明な点もあるが、N-脱アセチル化度が高いほど、即ち、アミノ基を多く含むほど効果が高いことから、アミノ基がコレステロールや胆汁酸と何らかの相互作用を発揮してその吸収を阻害することによるものと考えられている。

一方、経口摂取されたキトサンは、胃内ではpHが酸性であるためにアミノ基が正に荷電した遊離のアミノ基になることにより可溶化されるが、小腸ではpHが中性ないしアルカリ性であるために溶解性が下がり、ゲル化すると考えられる。キトサンのゲル化は、キトサンのアミノ基とコレステロール或いは胆汁酸との反応性を損なうものと考えられる。

ところで、キトサンの分子量を小さくすることで、小腸内のpH域でもキトサンがゲル化しないか、或いはゲル化しても分散性の良いゲル状態とすることができるものと考えられる。このような低分子量のキトサンであれば、降コレステロール

効果は増大されるものと考えられる。

しかし、実際には、糖鎖が5前後のオリゴキトサンでは降コレステロール効果は殆ど認められていない(M. Sugano et al., Lipids, 23, p187, '88)。即ち、オリゴキトサンはpHが中性ないしアルカリ性においても可溶であるので小腸内でもゲル化せず、溶解状態のままであると推定されるが、降コレステロール効果は殆ど得られない。このことから、オリゴキトサンでは分子量(1,000前後)が小さすぎて、コレステロールや胆汁酸の吸収を阻害することができないこと、降コレステロール効果を発現するには、キトサンがある程度の大きさの分子量を持つ必要があることが推定される。つまり、キトサンの降コレステロール効果が最大となるような分子量領域が存在するものと考えられる。

以上のような考えから、低分子量のキトサンの降コレステロール効果を検討した例はいくつか見られるが(菅野道廣:キチン・キトサンの開発と応用, p76)、キトサンの降コレステロール効

の原因は評価された低分子量キトサンの分子量が十分に小さくなかったためと考えた。そして本発明者らは、キトサンの最適な降コレステロール効果を示す分子量領域は、オリゴキトサンの持つ分子量1000前後よりもわずかに大きい領域、即ち、2千~2万であると推定した。この分子量領域は、通常pHが酸性でないと溶解しないキトサンが中性ないしアルカリ性でも可溶となる境界の上側の分子量領域であり、ゲル化はするが、分散性の良いゲル化状態を保つと考えられる。

本発明者らは、凝集剤等に用いられる高分子量(数十万)のキトサンを原料として、低分子化を行なって得た低分子量キトサンを高コレステロール飼料と共にラットに経口投与して血清中のコレステロール濃度の低下を観察した。その結果、高分子量である原料キトサンと比較して、重量平均分子量2000~20000の低分子量キトサンが明らかに高い降コレステロール効果を示すことを見出し、本発明を完成させた。

以下に本発明を詳細に説明する。

果が顕著に増大するような分子量領域を見出した研究例は報告されていない。

[発明が解決しようとする課題]

上述の如く、従来においては、キトサンの分子量と降コレステロール効果との関係について、定量的な検討がなされていないために、キトサンによる優れた降コレステロール効果が発揮される降コレステロール剤は提供されていないのが現状である。

本発明は上記従来の実情に鑑み、低分子量キトサンを有効成分とする降コレステロール効果に優れた降コレステロール剤を提供することを目的とする。

[課題を解決するための手段]

本発明の降コレステロール剤は、重量平均分子量2000~20000の低分子量キトサンを含むことを特徴とする。

即ち、前述の如く、従来においてはキトサンの低分子化による降コレステロール効果の顕著な向上効果が認められていないが、本発明者らは、こ

本発明の降コレステロール剤の有効成分である低分子量キトサンは重量平均分子量が2000~20000のものである。本発明では、重量平均分子量はGPCモードによる液体クロマトグラフィー法を用いて、ポリエチレングリコールを標準物質として測定する。低分子量キトサンの重量平均分子量が2000未満では、コレステロールや胆汁酸の吸収を阻害することができず、また、重量平均分子量が20000を超えるとキトサンのゲル化が起こり、ゲル状態がコレステロールや胆汁酸との相互作用を阻害し、いずれの場合も良好な降コレステロール効果が得られない。従って、本発明においては、低分子量キトサンの重量平均分子量は2000~20000、好ましくは3000~15000とする。

このような重量平均分子量2000~20000の低分子量キトサンは、通常、固有粘度0.1~1.0dL/gを示す。なお、本明細において、キトサンの固有粘度は、30℃において、0.2セル/2酢酸及び0.1セル/2酢

酸ナトリウムの混合水溶液を用いて測定された値である。

ところで、前述の如く、キトサンはアミノ基を多く含むほど降コレステロール効果が高いことから、本発明に係る低分子量キトサンはアミノ基を多く有し、コロイド当量値が高い程好ましい。低分子量キトサンの $\text{pH} = 4$ におけるコロイド当量値が 4.0 meq/g 未満ではアミノ基が少な過ぎて、十分な降コレステロール効果が得られない。通常、キトサンの低分子量化により得られる低分子量キトサンの $\text{pH} = 4$ におけるコロイド当量値は 6.2 以下であり、従って、本発明に係る低分子量キトサンの $\text{pH} = 4$ におけるコロイド当量値は $4.0 \sim 6.2 \text{ meq/g}$ であることが好ましい。

本発明に係る低分子量キトサンの製造方法には特に制限はなく、カニやエビの甲羅などから抽出されたキチンをアルカリで脱アセチル化して得られるキトサンを常法により低分子量化することにより容易に製造することができる。即ち、例え

性ないしアルカリ性で可溶化する限界の分子量領域であるので、高分子量キトサンに比べて分散性の良いゲル化状態を保つことにより降コレステロール効果が有効に発揮される。

【実施例】

以下に実施例及び比較例を挙げて本発明を具体的に説明する。

製造例 1

キチンの脱アセチル化により得られた原料キトサン 400 g を 6 L の純水に懸濁させた後、 NaOH を加えて $\text{pH} = 11$ に調整し、温度 70°C に保ち、 H_2O_2 (35%) 25.7 mL/L をローラーポンプで 1.5 mL/8 L 分の速度で添加しながら3時間反応させて低分子化を行なった。

低分子化反応後のキトサン含有液は、室温に冷却後、 NaBH_4 を添加して還元処理を行なった後、ポリプロピレン製濾布を用いて濾過した。次いで、純水を用いて洗浄濾過する操作を繰り返して脱塩を行なった後、凍結乾燥して低分子量キト

サンに過酸化水素、亜硝酸イオン、その他のアルカリ、酸等を加えてグルコシド結合を切断することにより低分子量化する。このうち、特に過酸化水素を用いる方法は、キトサンのコロイド当量値を殆ど低減することなく低分子量化が図れるので、好ましい方法である。具体的には、キトサンをアルカリ溶液中に懸濁させ、 $0.005 \sim 10$ 重量%程度の過酸化水素を添加し、温度 $20 \sim 90^\circ\text{C}$ 、 $\text{pH} 6 \sim 12$ にて $30 \sim 50$ 分程度反応を行ない、反応液を濾過し、得られた固形分を乾燥することにより低分子量キトサンを得る。この場合、キトサンに対する過酸化水素の添加割合を調節することにより、任意の分子量の低分子量キトサンを得ることができる。

【作用】

重量平均分子量 $2000 \sim 20000$ の低分子量キトサンは、コレステロールや胆汁酸と相互作用を発揮して、その吸収を阻害する優れた降コレステロール効果を示す。しかも、重量平均分子量 $2000 \sim 20000$ の低分子量キトサンは、中

サン No. 1 を得た。

製造例 2

製造例 1 と同様に低分子化反応を行なった後、塩酸 1.80 mL を加えてキトサンを溶解後、 NaOH で $\text{pH} = 11$ に調整してキトサンを懸濁させ、溶液を 6 L に調整した。これを温度 70°C に保ち、 H_2O_2 (35%) 25.7 mL/L をローラーポンプで 1.5 mL/6 L 分の速度で添加しながら3時間反応させて更に低分子化を行なった。

低分子化反応後のキトサン含有液は、製造例 1 と同様に還元処理、脱塩、凍結乾燥を行なって低分子量キトサン No. 2 を得た。

原料キトサン、低分子量キトサン No. 1、No. 2 の固有粘度、コロイド当量値、重量平均分子量は第 1 表に示す通りである。

第 1 表

試料名	固形粘度 (dl/g)	コロイド当量値 (meq/g) (pH=4)	重量平均 分子量
原料キトサン	17.2	5.6	約 22 万
低分子量 キトサン	No.1 0.67	6.3	約 2 万
	No.2 0.32	5.1	約 8 千

実施例 1, 2, 比較例 1, 2

初体重平均約 105 g の Sprague-Dawley 系雄ラットに、下記組成の飼料に試料物質として上記第 1 表に示した原料キトサン、低分子量キトサン No. 1, 2 及び対照としてセルロースを加えたものを自由摂食させた。水も自由に与えた。

摂食量と体重は 2 日毎に測定した。15 日間飼育後、早朝（午前 6 時 30 分）に飼料を抜き、13 時から断頭層殺し、血清の総コレステロール濃度及び肝臓の総コレステロールを Sperry-Webb 法で測定した。飼料摂食量、体重増加量、肝臓重量、血清及び肝臓の総コレステロール濃度を第 2 表に示す（各群 5 匹の平均値 ± 標準誤差）。

第 2 表

例	試料名	初体重 (g)	体重増加量 (g)	飼料摂食量 (g/40g)	肝臓重量 (g/100g 体重)	血清 コレステロール (mg/dl)	肝臓 コレステロール (mg/g)
比較例 1	原料キトサン	105 ± 3	90 ± 4	16.3 ± 0.9	4.34 ± 0.15	133 ± 13	24.4 ± 3.6
実施例 1	低分子量 キトサン	105 ± 3	105 ± 5	18.4 ± 1.1	5.65 ± 0.15	122 ± 13	15.7 ± 1.7
実施例 2	低分子量 キトサン	105 ± 4	99 ± 4	17.1 ± 0.3	5.53 ± 0.28	109 ± 16	25.6 ± 2.0
比較例 2	セルロース	105 ± 3	110 ± 7	18.3 ± 0.9	6.42 ± 0.34	157 ± 21	34.1 ± 2.7

飼料組成（重量%）

カゼイン：20

ハイオレイックサフラワー油：10

ビタミン混合：1

ミネラル混合：3.5

重酒石酸コリン：0.2

D-レメチオニン：0.3

コレステロール：0.25

コール酸ソーダ：0.06

コーンスターチ：15

セルロース：3

試料物質：2

以上のものにしよ糖を加えて全体を 100 とする。なお、ビタミン及びミネラル混合は AIN 配合。

第 2 表より、キトサンの分子量を小さくすることにより、降コレステロール効果は明らかに増大していることがわかる。

【発明の効果】

以上詳述した通り、本発明の降コレステロール剤は、降コレステロール効果が著しく高いために、少量の使用量にて高い降コレステロール作用を得ることができる。しかも、キトサンの分子量が低いために溶解状態で低粘度であることから、食品や飲料への添加が容易である。

本発明の降コレステロール剤によれば、キトサンを利用した降コレステロール機能を食品、飲料等の幅広い分野に適用することができ、その工業的有用性は極めて大きい。

代理人 弁理士 重 野 剛